

PERBAIKAN CARA PENYARIAN ASETAMINOFEN DALAM SEDIAAN TABLET MENURUT FARMAKOPE IV YANG DITETAPKAN KADARNYA DENGAN KROMATOGRAFI CAIR KINERJA TINGGI (KCKT)

(NEW EXTRACTION METHOD OF ACETAMINOPHEN IN TABLETS,
ACCORDING INDONESIAN PHARMACOPEA 4TH, ANALYZED USING HPLC)

Effendy De Lux Putra

Jurusan Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Sumatera Utara - Medan

ABSTRAK

Telah dilakukan penetapan kadar asetaminofen dalam beberapa tablet dengan mengubah cara penyi- riannya yang telah dianjurkan oleh Farmakope Ed.IV. Hasil penyarian dianalisis dengan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT). Dalam analisis dengan KCKT ini menggunakan fasa diam oktadesilsilane (ODS 250 mm x 6 mm), dan fasa gerak metanol : air (1:3) V/V dengan kecepatan alir 1,5 ml/menit, detektor UV pada panjang gelombang 243 nm, dengan waktu retensi 6 menit.

Uji perolehan kembali asetaminofen menunjukkan kadar rata-rata 98,10 % sampai 102,02 %, simpangan baku 1,0062 %, kesalahan relatif 0,07 % dan koefisien variasi 1,06%

Konsentrasi rata-rata asetaminofen di dalam tiap-tiap tablet dengan nama generik Parasetamol (Indofarma), Parasetamol (Kimia Farma), dengan nama dagang Biogesic, Panadol dan tablet yang dibuat sendiri, adalah berturut-turut 98,10 sampai 102,02%; 96,04% sampai 99,22 %, 97,84 % sampai 101,98%; 93,71% sampai 95,91%; dan 104,09% sampai 105,20%.

Hasil analisis menunjukkan ketelitian yang tinggi, dan semua tablet yang diuji memenuhi persyaratan Farmakope Indonesia Ed. IV, yaitu kadar tidak boleh kurang dari 90,0 % dan tidak boleh lebih (dari 110,0 %).

Kata kunci : KCKT, Asetaminofen, Metode penyarian

ABSTRACT

The assay of acetaminophen in some tablets by means of high performance liquid chromatography (HPLC), using a method of extraction other than that suggested by Indonesian Pharmacopoea 5th Edition, has been carried out. Chromatographic analysis was using octadecylsilane (ODS 250 mm x 6 mm) as stationary phase and methanol : water (1:3) V/V as mobile phase, flow rate 1,5 ml per minute, UV detector at 243 nm. Resulting retention time of acetaminophen was 6 minutes.

The quantitative recovery analysis of acetaminophen showed that the average concentration was 98,10 % to 102,02 %, standard deviation was 1,0062 %, relative error was 0,07 % and coefficient of variation was 1,06 %

The concentration of acetaminophen found in all acetaminophen tablet used were 98,10 % to 102,02 % ; 96,04 % to 99,22%; 97,84%:to 101,98%; 93,71% to 95,91%; and 104,09%:to 105,20 % respectively.

The result of quantitative analysis has highly precision, and all tablets that have been tested fulfilled the requirement of Indonesian Pharmacopoeia 5th edition, namely the concentration, not less than 90,0 % and not more than 110,00 %

Key words : HPLC, Acetaminophen, Extraction method

PENDAHULUAN

Asetaminofen banyak beredar, di pasaran dalam bentuk sediaan tablet dengan nama dagang maupun nama generik. Pada saat ini pemerintah melalui Departemen Kesehatan sedang giat-giatnya menyerukan penggunaan obat generik kepada masyarakat yaitu dengan dikeluarkannya Permenkes No. 085/Menkes/Per/111989 (Anonim, 1989).

Asetaminofen merupakan metabolit fenasetin dengan efek antipiretik. Efek analgesik asetaminofen serupa dengan salisilat yaitu menghilangkan atau mengurangi nyeri ringan sampai sedang. Asetaminofen menurunkan suhu tubuh dengan mekanisme yang diduga juga berdasarkan efek sentral seperti salisilat. Efek anti inflamasi sangat lemah, oleh karena itu asetaminofen tidak digunakan sebagai antirematik (Freddy, 1995; Sartono 1991, dan Schumacher dkk., 1994).

Salah satu kendala yang dihadapi dalam penerapannya Permenkes tersebut adalah adanya anggapan masyarakat yang menyatakan bahwa setiap barang dengan harga murah mempunyai mutu yang kurang baik dan sebaliknya. Anggapan ini berlaku juga terhadap obat. Asetaminofen tablet dengan nama generik dijual di Apotik dengan harga empat sampai lima kali lebih murah dari pada obat dengan nama dagang, sehingga memberi citra bahwa obat generik merupakan obat murahan.

Menurut Farmakope Indonesia Edisi IV (Anonim, 1995), tablet Asetaminofen atau tablet parasetamol adalah sediaan asetaminofen yang dikempa menggunakan bahan tambahan yang sesuai, mengandung asetaminofen, $C_8H_9NO_2$ tidak kurang dari 90,0 % dan tidak lebih dari 110,0 % dari jumlah yang tertera pada etiket.

Penetapan kadar asetaminofen menurut Farmakope Indonesia Edisi III (Anonim 1979) adalah dengan metoda spektrofotometri ultraviolet, sedangkan menurut Farmakope Indonesia Edisi IV (Anonim 1995) dengan metoda Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT).

Parasetamol dalam Farmakope Indonesia Edisi IV, dikatakan mudah larut dalam air mendidih, sedangkan dalam metanol tidak ada keterangan, dengan demikian pedoman tersebut akan dicoba untuk dimanfaatkan dalam penelitian ini. Hasil penyarian tersebut kemudian diencerkan, maka bila dalam analisis digunakan campuran metanol air 1:3 (V/V), tidak akan timbul masalah karena air mudah campur dengan metanol.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui, ketelitian hasil penetapan kadar asetaminofen yang terdapat dalam sediaan tablet generik dan tablet dengan nama dagang, dengan cara penyarian yang menggunakan air panas. Juga membandingkan dengan persyaratan yang ditetapkan oleh Farmakope Indonesia Edisi IV, (Anonim 1995). Selain itu sangat penting artinya sebagai informasi kepada instansi yang berwenang, masyarakat pengguna obat tentang kualitas obat yang diteliti.

METODOLOGI

Bahan; Asetaminofen standar (yang diperoleh dari *Ministry of Health General - Directorate Of Drugs and Food Control - National Quality Control Laboratory of Drug and Food (NQCLDP)*, BPFI Jakarta, dengan : *Certificate of Analysis PARACETAMOLUM*, Code number : 196002; Packing : vial; Content : 200 mg, assayed : 100,74 % ($C_8H_9NO_2$ dihitung sebagai anhidrat), dan disebut Asetaminofen standar BPFI

Tablet yang mengandung Asetaminofen dibeli di Apotik dengan nama : Biogesic (Biomedis Medifarma), Panadol (Sterling), Parasetamol (Indofarma), Parasetamol (Kimia Farma) dibeli di Apotik. Pengambilan contohnya dilakukan secara acak. dan digunakan tablet yang dibuat di laboratorium penelitian sebagai pembandingan.

Bahan pelarut dan fase gerak untuk analisis KCKT digunakan bahan mutu pereaksi dari E. Merck, selanjutnya bahan kimia lain bila tidak disebutkan digunakan mutu dan produk yang sama.

Alat: KCKT yang digunakan dari Shimadzu (di laboratorium penelitian FMIPA USU) dan dilengkapi kolom dengan fase diam ODS (Zorbax ODS 250 mm x 6 mm) dan fase gerak Metanol : Air (1:3)

V/V dengan kecepatan alir 1,5 ml/menit, detektor UV panjang gelombang 243 nm sensitifitas 0,08 AUFS (Absorbance Units Full Scale), (Snyder and Kirkland, 1979).

Pembuatan tablet:

Komposisi tablet Asetaminofen sebagai pembanding

R/ Asetaminofen	500 mg
Amilum manihot	5 %
Musilago amili 5%	q.s
Mg. stearat	1%
Sakharum laktis ad.	600 mg

Hasil yang diperoleh setelah dikempa

Bobot satu tablet	600 mg
Diameter Tablet	13 mm
Jumlah Tablet yang dibuat	100 tablet
Metoda Pentabletan	Granulasi basah (Ansel, 1989)

Setelah semua bahan yang diperlukan tersedia dicampur hingga homogen, siap untuk dicetak menjadi tablet dilakukan di Laboratorium Tablet FMIPA USU.

Pembuatan Larutan Induk Asetaminofen BPFI

Ditimbang seksama 50,0 mg asetaminofen BPFI anhidrat yang telah dikeringkan di atas silika gel selama 18 jam, dilarutkan dalam air mendidih dalam labu takar 250 ml. Setelah larut diencerkan dengan air sampai tepat garis tanda (250,0 ml). Kemudian disaring dengan *Millex HV Filter* 0,5 μ m. Sehingga diperoleh larutan induk asetaminofen dengan kadar 200 μ g/ml.

Pembuatan kurva kalibrasi

Dari larutan induk Asetaminofen diukur dengan buret 0,50 2,0; 6,0; 10,0; 14,0; 18,0 ml masing-masing diencerkan dengan air suling yang telah disaring dengan *Millex HV*, 0,5 μ m. dalam labu takar 100 ml, dan dengan air suling sampai tepat 100,0 ml, diperoleh kadar asetaminofen berturut-turut 1, 4, 12, 20, 28 dan 36 μ g/ml.

Kemudian masing-masing larutan tersebut diinjeksikan sebanyak 6 kali ke sistem KCKT yang telah dikondisikan siap untuk analisis. Untuk mengetahui bahwa KCKT sudah siap untuk digunakan, maka dapat dilihat bahwa tekanan pada pompa sudah tetap, serapan pada detektor tetap, garis alas (*base line*) sudah datar/lurus. Hal ini berarti fase gerak metanol : air (1:3) V/V, yang telah dibebaskan dari partikel padat dan gelembung udara tidak mengalami perubahan. Data hubungan antara kadar dan luas puncak (mV), dibuat kurva regresi linier normal.

Uji Temuan Kembali

Ditimbang seksama 500,0 mg asetaminofen (dibeli dari PT. Brataco), kemudian ditambahkan bahan seperti pada komposisi tablet, dimasukkan ke dalam labu takar 250 ml dan dilarutkan dengan air mendidih hingga larut sempurna, didinginkan ditambah air suling hingga 250,0 ml, disaring. Sepuluh mililiter filtrat pertama dibuang dan filtrat selanjutnya ditampung. Filtrat sebanyak 5,0 ml disaring dengan *Millex HV Filter*, dan filtrat dipipet 1,0 ml, diencerkan sampai 100,0 ml dengan air suling sehingga didapat kadar 20 μ g/ml, dan dianalisis dengan KCKT dan dihitung kadarnya menggunakan persamaan regresi linier (Munson, 1991).

Penetapan kadar Asetaminofen dalam tablet jadi

Ditimbang 20 tablet dari masing-masing sediaan yang diperiksa, kemudian ditimbang teliti sejumlah serbuk tablet setara dengan 500,0 mg asetaminofen. Masing-masing hasil penimbangan di perlakuan seperti tablet pada temuan kembali. Tetapi pengambilan filtrat sebanyak 2,0 ml dan diencerkan hingga 100,0 ml dalam labu takar maka diperoleh kadar 20 µg/ml masing-masing larutan dianalisis sebanyak 6 kali dengan KCKT.

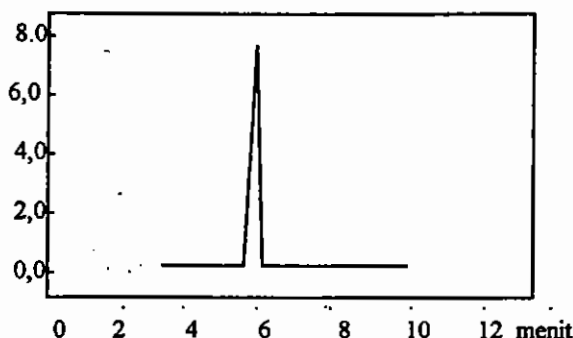
Larutan asetaminofen standar (BPFI), asetaminofen (dibeli dari PT. Brataco), asetaminofen Biogesic (Biomedis Medifarma.) dan asetaminofen dalam Parasetmol tablet (Indofarma) dengan kadar tertentu setelah disaring dengan *Millex HV Filter* dianalisis dengan KCKT (Jhonson and Stevenson, 1978)

Data yang berupa kromatogram, dan luas puncak (mV), digunakan untuk menghitung kadar asetaminofen, dengan kurva regresi linier. Data tersebut diolah lebih lanjut untuk mendapatkan hasil analisis dan metode penyarian yang dilakukan, sehingga dapat digunakan untuk menilai hasil penelitian ini bila dibandingkan dengan Farmakope edisi IV (Anonim, 1995).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Menurut prosedur Farmakope Indonesia edisi IV (Anonim, 1995), asetaminofen dilarutkan dengan fase gerak, tetapi asetaminofen tidak larut sempurna. Kemudian sejumlah tertentu (50,0 ml) air suling mendidih digunakan untuk menggantikan fase gerak tersebut, ternyata semua asetaminofen larut sempurna. Asetaminofen mudah larut dalam air mendidih, dan kelarutan dalam air (pada suhu kamar) 1:60. Berpedoman pada hasil ini larutan tersebut setelah dingin diencerkan dengan air suling sampai tanda (250,0 ml). Dengan demikian di dalam penelitian ini telah dilakukan penghematan fase gerak. Untuk uji kadar dan identifikasi asetaminofen yang dibeli di PT Brataco, disuntikkan larutan asetaminofen (BPFI) lebih dulu sehingga diketahui waktu retensinya kemudian larutan asetaminofen dari Brataco. Selanjutnya asetaminofen dari beberapa tablet dari pasaran dan tablet yang telah disiapkan sebagai pembanding.

Dilihat dari hasil kromatogram sediaan yang berisi asetaminofen, masing-masing mempunyai waktu retensi 6 menit. Ini menunjukkan bahwa setiap tablet yang diperiksa hanya mengandung satu zat saja yaitu asetaminofen tanpa ada kontaminan atau hasil uraian (Gambar 1)



Gambar 1. Kromatogram Asetaminofen, fase diam ODS, fase gerak metanol: air (1:3) Detektor Spektrofotometer UV pada 243 nm.

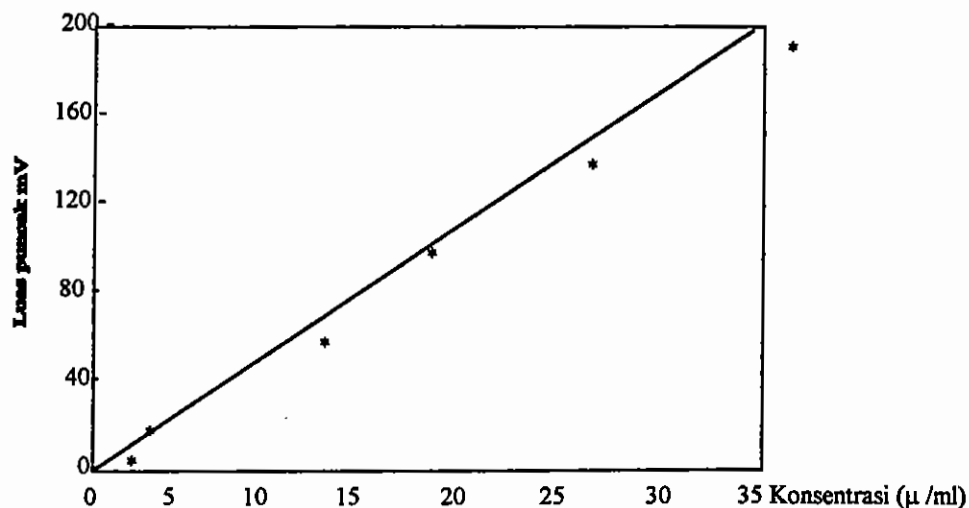
Hasil penyuntikan larutan standar asetaminofen BPFI yang dibuat dengan berbagai kadar untuk pembuatan kurva kalibrasi, diperoleh kurva regresi linier normal yang merupakan hubungan konsentrasi

versus luas puncak dengan persamaan regresi $Y = 0,6862 + 5,1308 X$ dan koefisien korelasi, $R = 0,9988$.

Tabel I . Data konsentrasi versus luas puncak (mV) untuk kurva regresi

Konsentrasi ($\mu\text{g/ml}$)	Injeksi I mV	Injeksi II mV	Injeksi III mV	Injeksi IV mV	Injeksi V mV	Injeksi VI mV	Rata-rata
1	7,0	6,5	7,0	7,0	7,0	7,0	6,92
4	21,0	21,0	20,0	20,0	20,0	20,0	20,50
12	56,5	57,0	56,5	57,0	57,0	57,5	56,83
20	103,0	104,0	103,0	104,0	103,0	103,5	103,42
28	137,0	139,0	139,0	139,0	139,0	139,0	138,67
36	188,0	186,5	188,0	189,0	188,0	187,0	187,75

Tabel tersebut bila digambarkan dalam bentuk kurva regresi linier adalah sebagai berikut



Gambar 2 :Kurva regresi linier larutan asetaminofen, konsentrasi versus luas puncak

Persamaan garis $Y = 5,13 X - 0,6862$, dan dengan $R = 0,9988$

Hasil 6 kali penyuntikan larutan asetaminofen yang dipersiapkan untuk uji perolehan kembali, (*recovery*) setelah dilakukan perhitungan diperoleh kadar perolehan kembali adalah 98,58 s/d 100,78 % .

Tabel II. Data. hasil uji perolehan kembali asetaminofen

NO	JENIS SEDIAAN ASETAMINOFEN					
	Asetaminofen murni		Formulasi sendiri		Biogesic	
	Luas puncak mV	Konsentrasi (%)	Luas puncak mV	Konsentrasi (%)	Luas puncak mV	Konsentrasi (%)
1	102,0	100,07	106,5	104,45	103,0	104,01
2	101,0	100,07	106,5	104,45	100,0	98,12
3	101,0	99,09	107,0	104,94	103,5	101,53
4	102,0	99,09	106,5	104,45	102,2	100,07
5	102,0	100,07	108,5	106,40*)	101,2	99,09
6	104,0	102,01	107,0	104,94	101,5	99,38

*) Ditolak

Tabel III. Data hasil uji perolehan kembali asetaminofen

NO	JENIS SEDIAAN ASETAMINOFEN					
	Panadol		Indofarma		Kimia Farma	
	Luas puncak mV	Konsentrasi (%)	Luas puncak mV	Konsentrasi (%)	Luas puncak mV	Konsentrasi (%)
1	97,0	95,20	102,0	100,07	97,0	95,20*)
2	96,0	94,22	101,0	98,58	98,5	96,65
3	97,0	95,20	103,0	100,04	100,0	98,12
4	98,0	95,20	103,5	101,53	100,0	98,12
5	96,0	94,22	103,0	101,04	99,5	97,63
6	99,0	97,14*)	100,0	98,12	101,0	99,58*)

*)Ditolak

Uji validasi metoda penetapan kadar asetaminofen terhadap uji perolehan kembali diperoleh kesalahan relatif (KR) = 0,07 % sedangkan koefisien variasi (KV) = 1,06 % . Dengan demikian, metoda diterima dan dapat digunakan untuk penetapan kadar asetaminofen dalam sediaan tablet, yang penyariannya menggunakan air yang dipanaskan dan ditetapkan kadarnya dengan KCKT.

Hasil analisis asetaminofen yang disari dari tablet diperoleh data seperti tertera pada tabel II, (sediaan ini dibuat sendiri, sehingga kadarnya tertentu) dan setelah dilakukan perhitungan statistik diperoleh konsentrasi 104,09 % sampai 105,20, ini berarti kisarannya sangat sempit atau hasilnya teliti.

Dengan cara yang sama hasil analisis asetaminofen yang disari dari tablet Biogesic (Tabel II), ditemukan konsentrasi sebenarnya 97,84 % sampai 101,98 %,

Analisis asetaminofen dalam tablet Panadol dari 6 kali percobaan (Tabel III), setelah dilakukan perhitungan diperoleh kandungan sebenarnya 93,71 % sampai 95,91 %

Hasil ini dibawah hasil yang telah dianalisis lebih dahulu, walaupun demikian masih memenuhi syarat Farmakope Indonesia Edisi IV, ialah bahwa kandungan tablet asetaminofen ($C_8H_9NO_2$) tidak kurang dari 90 % dan tidak lebih dari 110%. Tetapi data itu menunjukkan rendahnya kandungan asetaminofen dibanding asetaminofen dalam tablet pembandingan, dan kisaran kadar tetap rendah berarti tetap teliti.

Pada analisis kandungan asetaminofen dalam tablet dari Kimia Farma, diperoleh rentangan yang agak besar ialah antara 95,2 % sampai dengan 99,58, hasil ini menunjukkan keseragaman isi kurang bagus. Bila dilihat dari hasil perolehan asetaminofen dalam sediaan yang diformula sendiri, ketelitiannya cukup tinggi karena rentangannya pendek atau sempit (104,45 sampai 104,94), berarti data konsentrasi asetaminofen dari beberapa tablet yang rentangannya lebar memang aslinya seperti itu, bukan disebabkan oleh ketidak telitian metode yang digunakan

Dengan keterangan di atas dapat disimpulkan bahwa penyari air panas cukup baik digunakan untuk menyari asetaminofen dalam sediaan tablet, disamping biaya murah, dan hasil penyariannya sempurna.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Contoh sediaan tablet sebanyak lima jenis hasilnya memenuhi syarat Farmakope Indonesia Ed. IV, (Anonim, 1991 ; Anonim 1995) ialah tablet generik dan non generik yang diperiksa. Parasetamol (Indofarma), Parasetamol (Kimia Farma), dan tablet dengan nama dagang Biogesic, Panadol serta tablet buatan sendiri, mempunyai kandungan asetaminofen sebesar berturut-turut 98,10 % sampai 102,02 ; 96,04 % sampai 99,22 %; 97,84 % sampai 101,98 % ; 93,71 % sampai 95,91 %, dan 1.04,09 sampai 105,20 % .

Semua hasil tersebut memenuhi persyaratan yang ditetapkan Farmakope Indonesia edisi IV, yaitu berisi asetaminofen, $C_8H_9NO_2$ tidak kurang dari 90 % dan tidak lebih dari 110,0 % dari jumlah yang tertera pada etiket.

Tablet generik dengan harga lima kali lebih murah dibanding tablet dengan nama dagang ternyata mempunyai kualitas yang baik dan memenuhi syarat yang ditetapkan.

Saran

Disarankan agar dilakukan penelitian lebih lanjut yaitu penetapan kandungan senyawa lain dalam tablet dengan menggunakan penyari yang murah dan efektif.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada saudara Henti Putri yang sangat banyak membantu penulis di Laboratorium Penelitian F-MIPA Universitas Sumatra Utara selama penelitian ini dilaksanakan.

Ucapan terimakasih juga disampaikan kepada Kepala Laboratorium Penelitian F.MIPA USU yang telah banyak membantu dalam memberi fasilitas penggunaan alat-alat laboratorium selama penelitian berlangsung.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim, 1989, Permenkes No. 085, /Menkes/Per/I/1989, Departemen Kesehatan RI, Jakarta, hal. 15-17.
- Anonim, 1991, *Farmakope Indonesia*, Edisi 1991, Departemen Kesehatan RI Jakarta, hal. 6-8
- Anonim, 1995, *Farmakope Indonesia*, Edisi IV, Departemen Kesehatan Republik Indonesia Jakarta, hal. 650-651; 1009-1011
- Ansel, H.C., 1989, *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi* Edisi Keempat, Jakarta, LTI Press, Hal. 201 - 271
- Freddy W.P., 1995, *Analgesik - Antipiretik, Analgesik Anti-Inflamasi Nonsteroid dan obat Pirai, dalam Farmakologi dan Terapi*, edisi IV, Jakarta, UI Press, Hal. 207 - 215
- Jhonson, E.L. and Stevenson, R. 1978, *Basic Liquid Chromatography*, Varian Associates, Inc., Hansen Way, Palo Alto, California 94303. p. 2-5 1; 223247.
- Lindsay, S. 1987, *High Performance Liquid Chromatography*, Singapore, A Wiley Medical Publication, p. 1-43
- Munson, J.W. 1991, *Analisis Farmasi Modern*, Terjemahan Harjana, Surabaya, Airlangga University Press, Hal. 14 - 70
- Schumack W., K Mayer and M. Haake, 1996, *Senyawa Obat*, edisi II, terjemahan J.R. Wattimena dan Sriwoelan, S., Yogyakarta, Gadjah Mada University Press, Hal. 263-264
- Snyder, L.R. and Kirkland, J.J. 1979, *Introduction To Modern Liquid Chromatography* 2nd ed., Singapore John Wiley & Sons Inc., p. 542-590